

19 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT

12 Offenlegungsschrift  
10 DE 197 23 873 A 1

51 Int. Cl.<sup>6</sup>: D2  
G 01 P 13/00  
G 01 P 3/80  
G 01 P 3/68  
G 01 N 33/483 E  
G 01 P 13/04

21 Aktenzeichen: 197 23 873.4  
22 Anmeldetag: 6. 6. 97  
43 Offenlegungstag: 10. 12. 98

Kopie in: 601N

33/483 D1

DE 197 23 873 A 1

71 Anmelder:  
EVOTEC BioSystems GmbH, 22529 Hamburg, DE

74 Vertreter:  
v. Bezold & Sozien, 80333 München

72 Erfinder:  
Fuhr, Günter, Prof.Dr., 13127 Berlin, DE; Schnelle,  
Thomas, Dr., 10243 Berlin, DE; Glasser, Henning,  
Dr., 10245 Berlin, DE

56 Entgegenhaltungen:

DE 1 95 02 993 A1  
DE 44 27 820 A1  
DE 35 39 783 A1  
DE 31 10 828 A1  
US 55 32 814  
US 41 62 509

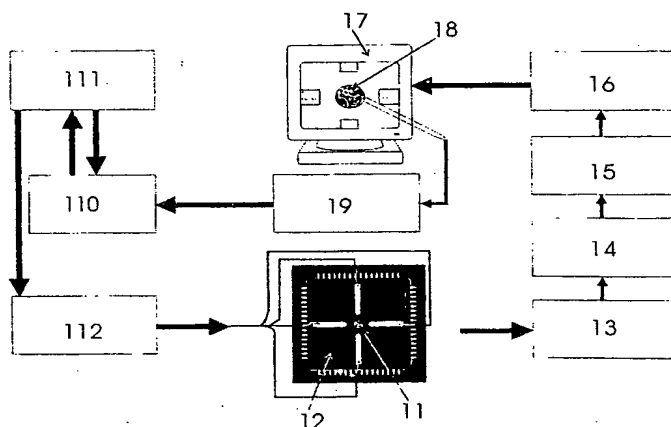
Meas. Sci. Technol. Vol. 7 (1996), S. 1148-1152;  
tm-Tech. Messen, Vol. 61 (1994), S: 33-39;  
Meas. Sci. Technol., Vol. 6 (1995), S. 507-514;

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

54 Verfahren und Vorrichtung zur Erfassung von Objektbewegungen

57 Die periodische Bewegung eines mikroskopisch kleinen Objekts wird erfaßt, indem eine vergrößerte Abbildung des Objekts erzeugt und mit einem Detektormittel ein Teilbereich des Objekts erfaßt wird. Das Detektormittel stellt ein Detektorsignal bereit, dessen Zeitabhängigkeit charakteristisch für die Zeitabhängigkeit der Objektbewegung ist. Das Detektorsignal wird digitalisiert und einer Fourier- und/oder Korrelationsanalyse unterzogen.



DE 197 23 873 A 1

## Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur automatischen Bewegungserfassung an mikroskopisch kleinen Teilchen, insbesondere zur Messung der Geschwindigkeit von Rotationen oder zumindest teilweise periodischen transversalen Bewegungen derartiger Teilchen, wie z. B. zur Messung von Rotations- und Oszillationsbewegungen biologischer Zellen oder biologischer Zellbestandteile in wässrigen Suspensionen.

Zur Charakterisierung von Mikroobjekten (wie z. B. Latexpartikel, lebende Zellen usw.), die in Flüssigkeit suspendiert sind, werden charakteristische Objektbewegungen verwendet, die über elektrische Rotations- und Wechselfelder induziert werden (Übersicht in U. Zimmermann et al. "Electro-manipulation of Cells" CRC Press Inc., 1996). Die Objektbewegung kann beispielsweise eine Rotation oder eine Oszillation auf einer geradlinigen oder gekrümmten Bewegungsbahn sein. Aus den Bewegungseigenschaften (z. B. Geschwindigkeit, Auslenkung aus einer Gleichgewichtslage) kann auf passive elektrische Eigenschaften der bewegten Objekte geschlossen werden. Charakteristische Oszillationsgeschwindigkeiten der Objekte liegen im Bereich von 100 Umdrehungen (oder Schwingungen) pro Sekunde bis zu 1 Umdrehung (oder Schwingung) pro Minute, typischerweise unterhalb von 1 Umdrehung oder Schwingung pro Sekunde.

Die Objektrotation verhält sich proportional zum Imaginärteil des Clausius-Mosotti-Faktors, während die oszillatorische Bewegung in einem inhomogenen Wechselfeld dem Realteil dieses Faktors entspricht (s. T. B. Johns "Elektromechanics of Particles" Cambridge University Press, Cambridge, 1995).

Die Erfassung passiver elektrischer Eigenschaften biologischer Objekte hat sich in der Biologie und Medizin als hochauflösendes Untersuchungsverfahren erwiesen, das mit Impedanzmessungen vergleichbar ist. Nachteilig ist jedoch, daß die Rotation oder transversale Bewegung eines Objektes bislang entweder durch visuelle Beobachtung oder durch aufwendige technische Verfahren bestimmt werden muß. Ferner ist es bislang unmöglich, sowohl den Imaginär- als auch den Realteil des Clausius-Mosotti-Faktors an einzelnen Mikroobjekten automatisch zu erfassen. Dies wäre jedoch insbesondere bei kompliziert aufgebauten Objekten von Bedeutung, da die Real- und Imaginär-Teile mit der Kramers-Kronig-Beziehung ineinander überführbar sind, so daß eine Kontrolle der Meßwerte bzw. der verwendeten Modelle möglich wäre. Ein weiterer Nachteil ist, das mit der direkten (visuellen) Beobachtung nur relativ langsame Bewegungen genügend genau meßbar sind (langsamer als 1 Umdrehung pro Sekunde).

Automatische Rotationsmessungen sind z. B. aus DE-OS 33 25 843 oder DD-WP 2 81 223 (1986) bekannt. Bei dieser Messung werden elektrische Wechselfelder zur Induzierung unterschiedlicher Drehrichtungen appliziert. Die Anschaltzeiten werden so lange variiert, bis das Objekt still steht. Diese Methode ist wegen des Steuer- und Zeitaufwandes und wegen der Notwendigkeit nachteilig, daß der Objektstillstand durch visuelle Beobachtung bestimmt werden mußte.

Es ist ferner allgemein bekannt, die Bewegung komplex strukturierter Objekte mit Bildverarbeitungssystemen zu erfassen. Mikroskopische Objektbilder werden in zeitlicher Folge aufgenommen, gespeichert und über eine Raum-Transformation einer Vielzahl von Bildpunkten zur Bewegungsrekonstruktion bearbeitet. Dies ist nachteilig, da eine hohe Informationsdichte zu verarbeiten ist, was die Rechnerverarbeitung langwierig und aufwendig gestaltet. Zusätz-

liche Probleme treten bei Veränderungen der Objektstruktur während der Messung auf, falls sich z. B. die Fokusebene verlagert oder falls die Objekte einen schwachen Kontrast besitzen.

Von J. Gimsa et al. ("Electro-rotation of Particles by Dynamic Light Scattering - A new dielectric spectroscopy technique", Colloids and Surfaces A: Band 98, S. 423 ff., 1995) wird eine automatische Bewegungsmessung unter Verwendung der dynamischen Lichtstreuung beschrieben. Dieses Verfahren ist jedoch in seiner Anwendbarkeit beschränkt, da es nicht an einzelnen Objekten einsetzbar ist, sondern lediglich Mittelwerte über eine Vielzahl von Partikeln liefert, die sich in einem Meßstrahl befinden. In der Regel handelt es sich dabei mindestens um 100 Partikel.

Die Aufgabe der Erfindung ist es, ein verbessertes Verfahren zur Bewegungserfassung an mikroskopisch kleinen Objekten anzugeben, mit dem insbesondere eine schnelle und automatisierbare Bewegungsmessung selbst an einzelnen Teilchen ermöglicht wird und das einen erweiterten Anwendungsbereich besitzt. Mit dem Verfahren sollen beliebige periodische Bewegungen, insbesondere sowohl Rotations- als auch Oszillationsbewegungen erfaßt werden. Aufgabe der Erfindung ist es ferner, eine Vorrichtung zur Implementierung des Verfahrens anzugeben.

Die Aufgabe der Erfindung wird durch ein Verfahren und eine Vorrichtung mit den Merkmalen entsprechend den Patentansprüchen 1 bzw. 10 gelöst. Vorteilhafte Ausführungsformen der Erfindung ergeben sich aus den abhängigen Ansprüchen.

Die Erfindung beruht auf der Idee, mit mindestens einem Detektormittel eine Abbildung des zu untersuchenden, bewegten Objekts zu erfassen, ein Detektorsignal des Detektormittels über mehrere Objektdrehungen oder -oszillationen aufzunehmen und einer Fourier- und/oder Korrelationsanalyse zu unterziehen. Mit dem Detektormittel wird vorzugsweise ein Teil des Objektbildes erfaßt. Die Fourier- und Korrelationsanalyse erfolgt nach an sich bekannten, herkömmlichen Algorithmen und wird daher hier im einzelnen nicht beschrieben. Die Analyse liefert die Frequenz der Objektrotation oder -oszillation und ganzzahlige Vielfache von dieser. Aus der Amplitude und Frequenz der Analysesignale kann auf die tatsächliche Partikelbewegung rückgeschlossen werden.

Werden zwei oder mehrere Detektormittel zu Teilbilderfassung verwendet, so kann aus der Phasenverschiebung der Korrelationssignale die Bewegungsrichtung (der Rotation oder Translation) erfaßt werden. Der Einsatz mehrerer Detektormittel ist jedoch nicht zwingend erforderlich. Vielmehr ist es auch möglich, die Objektbewegung mit einem einzelnen Detektormittel zu erfassen.

Eine erfindungsgemäße Vorrichtung umfaßt Abbildungsmittel zur Erzeugung eines vergrößerten Objektbildes, mindestens ein Detektormittel, das dazu eingerichtet ist, einen Teilbereich des Objektbildes zu erfassen, und Signaltbearbeitungs- und Rechenmittel. Die Abbildungsmittel sind vorzugsweise in den Strahlengang eines Mikroskops integriert oder werden durch ein mit einem Mikroskop gekoppeltes Anzeigemittel gebildet.

Die erfindungsgemäße Bewegungserfassung besitzt den Vorteil, daß eine relativ geringe Anzahl serieller Meßwerte erfaßt, gespeichert und verarbeitet wird. Eine Muster- oder Bilderkennung ist nicht erforderlich, so daß die zu verarbeitende Informationsdichte stark reduziert ist. Aufgrund der geringen Datenmengen lassen sich die Fourier- und Korrelationsanalysen schnell und mit hoher Genauigkeit ausführen. Die Objektbewegung kann in Echtzeit erfaßt werden. Mit der Erfindung können die bisherigen Beobachtungsgrenzen überwunden werden. So ist erfindungsgemäß die Erfassung

von bisher nicht auflösbaren Partikelbewegungen mit Frequenzen unterhalb von 2 Schwingungen pro Sekunde erfassbar.

Die erfindungsgemäße Bewegungserfassung ist leicht automatisierbar. Es lassen sich ohne weiteres einzelne Objekte oder simultan eine Vielzahl von Objekten beobachten.

Eine bevorzugte Verwendung der Erfindung ist die Ermittlung passiver elektrischer Eigenschaften biologischer Objekte, die in einem Feldkäfig mittels negativer Dielektrophorese angeordnet und durch Anlegen rotierender elektrischer oder sich periodisch ändernder Wechselfelder in einem schwebenden Zustand in die jeweilige Bewegung versetzt werden.

Weitere Einzelheiten und Vorteile der Erfindung werden im folgenden in Bezug auf die beigelegten Zeichnungen beschrieben.

Es zeigen:

Fig. 1 eine Blockdarstellung einer Ausführungsform einer erfindungsgemäßen Meßanordnung;

Fig. 2 Beispiele mikroskopischer Abbildungen von biologischen Zellen;

Fig. 3 Kurvendarstellungen der Signalverläufe bei der erfindungsgemäßen Erfassung der Rotation eines synthetischen Objekts;

Fig. 4 Kurvendarstellungen der Signalverläufe bei der erfindungsgemäßen Erfassung der Rotation eines Lymphozyten;

Fig. 5 Kurvendarstellung der Signalverläufe bei der erfindungsgemäßen Erfassung der Rotation eines Pollenkornes;

Fig. 6 eine Kurvendarstellung zur Illustration von Vorteilen der erfindungsgemäßen Bewegungserfassung; und

Fig. 7 weitere Kurvendarstellungen der Signalverläufe bei der erfindungsgemäßen Erfassung der Rotation eines synthetischen Objekts.

Im folgenden wird die Erfindung am Beispiel der Rotationsmessung an synthetischen oder biologischen Objekten, die mit einer Mikroelektrodenanordnung manipuliert und mit einem Lichtmikroskop beobachtet werden, beispielhaft beschrieben. Die Erfindung ist jedoch in gleicher Weise bei der Erfassung von periodischen Translationsbewegungen auf geraden oder gekrümmten Teilchenbahnen oder von periodischen Schwenkbewegungen (Drehung mit Richtungs-umkehr) einsetzbar. Außerdem ist die Realisierung der Erfindung nicht an die Kombination mit Mikroelektrodenanordnungen und Mikroskopbeobachtungen gebunden, sondern allgemein bei der Bewegungserfassung beliebiger Objekte anwendbar.

Eine erfindungsgemäße Vorrichtung enthält entsprechend der schematischen Übersicht gemäß Fig. 1 eine Elektrodenanordnung 12 zur Bildung eines Mikrofeldkäfigs, in dem ein mikroskopisch kleines Objekt 11 (Größe ungefähr 500 µm oder geringer) in eine periodische Bewegung (Rotation oder transversale Oszillation) versetzt wird. Die Abbildungsmittel umfassen beim dargestellten Beispiel ein Lichtmikroskop 13 mit einer elektronischen Bilderfassung (Videokamera 14), gegebenenfalls einem simultan betriebenen Videorecorder 15, einem Videosignalkonverter 16 und einem Anzeigemittel (z. B. Bildschirm oder Monitor 17). Mit dieser Anordnung ist ein Abbild des beobachteten Objekts 11 (z. B. biologische Zelle, synthetischer Partikel) zum Beispiel in Aufsicht- oder Durchlichtdarstellung auf dem Monitor 17 darstellbar. Der Videosignalkonverter 16 kann eine Schaltungsanordnung zur Bildbearbeitung, zum Beispiel für eine Falschfarbendarstellung oder eine Kontrasterhöhung, enthalten.

Die Abbildungsmittel (13–17) können ersatzweise durch eine Anordnung zur vergrößerten Abbildung des Objekts auf einen Bereich gebildet werden, in dem sich das oder die

Detektormittel befinden. Das Objekt kann beispielsweise mit einer geeigneten Optik ganz oder teilweise direkt auf das Detektormittel (z. B. eine CCD-Matrix oder Zeile) abgebildet werden.

Es ist auch möglich, einen CCD-Detektor im Strahlengang eines Mikroskops anzuordnen und einen Teil des mikroskopischen Bildes auf den Detektor zu projizieren.

Zur Realisierung der Erfindung ist es erforderlich, daß das Detektormittel zur Aufnahme eines Lichtsignals eingerichtet ist, das sich entsprechend der periodischen Objektbewegung verändert. Wegen der in der Regel integrierenden Wirkung von Photodetektoren wird daher vorzugsweise nicht das Gesamtbild des Objektes, sondern nur ein Teilbereich von diesem aufgenommen. Der Teilbereich ist vorzugsweise wesentlich kleiner als 50% der abgebildeten Objektfläche. Es ist jedoch in speziellen Fällen auch möglich, das Gesamtbild des Objektes zu erfassen, falls sich dieses mit der periodischen Bewegung selbst periodisch ändert. Dies ist beispielsweise der Fall, wenn bei einer translatorischen Oszillation nur ein Teil der Bewegungsbahn beleuchtet oder bei besonderen Objektformen und geeigneter Beleuchtungsrichtung während der Rotation eine periodische Reflektivitätsänderung des Objekts stattfindet.

Um die allgemein am breitesten anwendbare und bevorzugte Ausführungsform der Aufnahme nur eines Teilbereiches des bewegten Objekts mit Detektormitteln zu realisieren, wird das Maß der Bildvergrößerung an die Größe des beobachteten Objektes und die Größe der lichtempfindlichen Fläche des Detektormittels angepaßt. Daher muß der Abbildungsmaßstab nicht unbedingt ein visuell gut beobachtbares Abbild ergeben. Dies ist insbesondere zur Implementierung der Erfindung in automatisierten Systemen von Bedeutung.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung enthält gemäß Fig. 1 ferner Detektormittel zur Aufnahme eines Teilbereiches des abgebildeten Objekts. Das Detektormittel umfaßt mindestens ein Photoelement 18 (Photowiderstand, Photodiode, Phototransistor, CCD-Detektor oder ähnliches), das unmittelbar auf der Bildschirmfläche des Monitors 17 angebracht ist. Das oder die Photoelemente werden einfach auf dem Bildschirm mit geeigneten Haftmitteln befestigt.

Es ist möglich, nur ein Photoelement zur Erfassung eines Teilbereiches des beobachteten Objekts anzubringen. Alternativ ist es möglich, mit Abstand von dem ersten Photoelement ein zweites Photoelement zur Erfassung eines Teilbereiches des Objekts anzubringen, um eine Information über die Bewegungsrichtung des Objektes zu erhalten (s. unten). Schließlich ist es zur Erhöhung des Signal-Rausch-Abstandes möglich, zusätzlich ein weiteres Photoelement zur Aufnahme des Bildhintergrundes vorzusehen, wodurch das Hintergrundrauschen bei der Signalverarbeitung berücksichtigt werden kann.

Das Signal des Detektormittels wird mit einem Signalkonverter 19 entsprechend einer Meßfrequenz digitalisiert und über eine Schnittstelle 110 einem Steuerrechner 111 zugeführt. Der Steuerrechner 111 ist insbesondere zur Realisierung der Standardprozeduren der Bildung der Fourier-Transformierten und/oder der Autokorrelationsfunktion eingerichtet.

Um die passiven elektrischen Eigenschaften biologischer Objekte durch Aufnahme vollständiger Bewegungsspektren (z. B. Bewegungsresponse des Objektes in Abhängigkeit von der Frequenz rotierender elektrischer Felder im Mikrofeldkäfig) zu erfassen, ist es gemäß einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung zweckmäßig, den Steuerrechner 111 mit einem Hochfrequenzgenerator 112 zu verbinden. Die Generatorausgangssignale des Hochfrequenzgenerators 112 sind zur Ansteuerung der Elektroden der Mikro-

elektrodenanordnung 12 vorgesehen. Zur Gewinnung vollständiger Spektren wird die Frequenz, Amplitude und/oder Phasenlage des Generators Ausgangssignale durch den Steuerrechner 111 in Abhängigkeit von den erfaßten Bewegungsmerkmalen des beobachteten Objekts variiert.

Die Implementierung des erfindungsgemäßen Verfahrens mit einer Vorrichtung gemäß Fig. 1 erfolgt derart, daß das Objekt 11 auf dem Monitor 17 vergrößert dargestellt und das Detektormittel zur Erfassung eines Teilbereichs des Objekts auf dem Bildschirm installiert wird. Bei geeigneter Ansteuerung der Mikroelektrodenanordnung setzt sich das Objekt 11 in Rotation. Durch den Vorbeitritt des Objekts an dem vom Detektormittel erfaßten Teilbereich werden aufgrund von Kontrastschwankungen auf der Objektoberfläche Helligkeitsunterschiede erfaßt. Dementsprechend zeigen die elektrischen Detektorsignale eine Zeitabhängigkeit, die charakteristisch für die Zeitabhängigkeit der periodischen Objektbewegung ist. Die Detektorsignale werden digitalisiert, gegebenenfalls zwischengespeichert und einer Auswertungsanalyse unterzogen. Die Auswertungsanalyse umfaßt eine Fourier-Analyse und/oder eine Autokorrelationsanalyse.

Fig. 2 zeigt zwei Abbildungen einer mikroskopisch vergrößerten Zelle 21 mit erfindungsgemäß angebrachten Photoelementen 22, 23 und 24 des Detektormittels. Gemäß der oberen Abbildung (A) sind zwei Meßphotoelemente 22, 23 angebracht, die jeweils ein Teilbereich der Zelle 21 erfassen. Das Referenz-Photoelement 24 ist neben dem Zellbild angebracht und dient der Erfassung des Hintergrundrauschens. Zeigt das abgebildete Objekt wie die Zelle 21 nur geringe Strukturen (kleine Helligkeitsunterschiede, geringer Kontrast bzw. geringe Brechungsunterschiede) so wird erfindungsgemäß eine Bildkontrastierung vorgenommen. Die Bildkontrastierung kann auf optischem Weg durch Veränderung der Objektbeleuchtung am Mikroskop oder auf elektronischem Weg durch eine Signalkontrastierung nach elektronischer Videosignalsbearbeitung erzielt werden.

Das untere Bild (B) von Fig. 2 zeigt die Wirkung einer elektronischen Signalkontrastierung an der Zelle 21 gemäß Bild A. Es ist erkennbar, daß die Helligkeitsunterschiede auf dem Objektbild vergrößert und somit größere Detektorsignalamplituden erzielbar sind.

In den Fig. 3, 4, 5 und 7 sind erfindungsgemäß gewonnene Detektorsignale und ihre Bearbeitung dargestellt. Dabei zeigen jeweils die Kurvenverläufe a die Zeitabhängigkeit des Detektorsignals (Spannungs- oder Stromverlauf eines Photoelements), b die Fourier-Transformierte (Amplitude in Abhängigkeit von der Zeit) des Detektorsignals gemäß a und c die Autokorrelationsfunktion (relative Einheiten in Abhängigkeit von der Zeit) des Detektorsignals gemäß a.

Fig. 3 illustriert die Messung an einem gut kontrastierten Objekt (künstlicher dielektrischer Körper). Die tatsächliche Rotationsgeschwindigkeit lag bei 2 U/s. Das Detektorsignal a unterliegt periodischen Schwankungen, die der Objektrotation entsprechen. Die Fourier-Transformierte b liefert eine maximale Amplitude bei der Rotationsfrequenz und geringere Beiträge bei den höheren Harmonischen (4 bzw. 6 Hz). Die Autokorrelationsfunktion c, die eine Faltung des Detektorsignals a mit sich selbst unter Einbeziehung einer vorbestimmten Verzögerungszeit darstellt, besitzt entsprechende Maxima bei den Vielfachen der Periodendauer. Die Signalanalysen b bzw. c liefern Werte für die Periodendauer von  $T = 0.502$  s bzw.  $T = 0.501$  s. Die Abweichung liegt somit unterhalb von 2% in Bezug auf den erwarteten Wert 0.5 s. Diese hohe Genauigkeit der Bewegungserfassung stellt einen entscheidenden Vorteil dar.

Die Fig. 4 und 5 zeigen entsprechende Messungen an ei-

nem Lymphozyten (Durchmesser 15  $\mu$ m) bzw. einem Pollenkorn von *Corylus Avellana*.

Es ist erfindungsgemäß möglich, ausschließlich die Fourieranalyse oder ausschließlich die Autokorrelationsanalyse durchzuführen. Zur Erhöhung der Meßgenauigkeit wird jedoch eine Kombination von beiden analytischen Verfahren bevorzugt.

Falls das Detektormittel mehrere Photoelemente umfaßt, die jeweils einen anderen Teilbereich des beobachteten Objekts aufnehmen, kann zusätzlich zur Erfassung der Periodendauer auch die Bewegungsrichtung ermittelt werden. Hierzu werden eine erste und eine zweite Autokorrelationsanalyse entsprechend für die ersten und zweiten Photoelemente durchgeführt und die Phasenverschiebung zwischen den Autokorrelationssignalen erfaßt. Das Photoelement mit dem voranlaufenden Autokorrelationssignal liegt dabei in Bewegungsrichtung vor dem anderen Photoelement.

Wie in Bezug auf die Rotation beschrieben, kann analog die Periodendauer und Auslenkung bei translatorischen Oscillationen erfaßt werden.

Fig. 6 zeigt ein Beispiel einer automatischen Spektrenerfassung (durchgezogene Linie 61) im Vergleich mit einer diskreten, visuellen Beobachtung (gepunktete Linie 62) mit einer Stoppuhr-Zeitmessung. Das Rotationsspektrum einer lebenden Zelle (Rotation = Im (fcm) = Imaginärteil des Clausius-Mosotti-Faktors als Funktion des Logarithmus der Feldfrequenz zeigt die Anwendbarkeit der Erfindung über einen weiten Frequenzbereich und eine gute Übereinstimmung der visuellen Beobachtung.

Fig. 7 illustriert eine weitere Messung an einem künstlichen dielektrischen Körper. Das Detektorsignal a wurde mit einem Photoelement auf der Monitorfläche erfaßt. Das Objekt wurde mit einer im Vergleich zu Fig. 3 wesentlich höheren Geschwindigkeit gedreht. Die tatsächliche Rotationsgeschwindigkeit lag bei rd. 12.8 U/s, was einer Bewegungsperiode von T von rd. 0.07825 s entspricht. Das Signal des Photoelements wurde während einer Meßzeit von 20 s mit einer Meßfrequenz von 171 Messungen/s aufgenommen. Die Fourier-Transformierte b ergibt eine Periodendauer  $T_{FFT} = 0.078245$  s, was einem relativen Fehler gegenüber der tatsächlichen Drehgeschwindigkeit unterhalb von 0.01% entspricht. Dem Spektrungsverlauf b ist ferner die Bildwiederholfrequenz des Monitors (60 Hz) entnehmbar.

Ein besonderer Vorteil der Erfindung besteht in der Kombinierbarkeit der Bewegungserfassung mit anderen Autokorrelationsmessungen. So besteht eine bevorzugte Verwendung der Erfindung in der Kombination mit optischen Autokorrelationsmessungen, insbesondere mit der Fluoreszenz-Korrelations-Spektroskopie (FCS). Hierzu zählen beispielsweise FCS-Meßanordnungen mit einer konfokal angeordneten Lochblende (WO 94/16313), mit einer laserinduzierten Zwei-Photonen-FCS (EP-A 0 762 114, US-A-5 034 613) oder mit einer nahfeldmikroskopischen Anordnung, mit der stoffspezifische Parameter eines oder mehrerer Moleküle mittels Korrelationsspektroskopie ermittelt werden (WO 96/13744).

#### Patentansprüche

1. Verfahren zur Bewegungserfassung an sich zumindest zeitweilig periodisch bewegenden Objekten, bei dem eine Objektabbildung mit mindestens einem Detektormittel erfaßt wird, dessen Detektorsignal über den Zeitraum einer Mehrzahl von Bewegungsperioden des Objekts aufgenommen und einer Fourier-Analyse und/oder einer Korrelationsanalyse unterzogen wird.
2. Verfahren gemäß Anspruch 1, bei dem zur Objektabbildung das zu beobachtende Objekt mit einem opti-

schen System auf das Detektormittel abgebildet wird.

3. Verfahren gemäß Anspruch 2, bei dem die Abbildung derart erfolgt, daß das Detektormittel einen Teilbereich des Objekts erfaßt.

4. Verfahren gemäß Anspruch 3, bei dem der Teilbereich weniger als 50% der abgebildeten Objektoberfläche umfaßt.

5. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem die Objektabbildung unter Verwendung eines Mikroskops, eines Videosystems und eines Anzeigemonitors erfolgt, wobei das Detektormittel mindestens ein Photoelement umfaßt, das auf der Bildschirmfläche des Monitors in einem Teilbereich des abgebildeten Objekts angebracht wird.

6. Verfahren gemäß Anspruch 5, bei dem mindestens zwei Photoelemente mit Abstand im Bereich des abgebildeten Objekts vorgesehen sind und die Phasenverschiebung zwischen den Korrelationssignalen erfaßt wird, die aus den Detektorsignalen der Photoelemente ermittelt sind.

7. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4, bei dem zur Objektabbildung ein Teilbereich des Objekts auf ein Detektormittel abgebildet wird, das im Strahlengang eines Mikroskops vorgesehen ist.

8. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem die beobachteten Objekte suspendierte Mikropartikel in elektrischen Hochfrequenz-Feldkäfigen sind.

9. Verfahren gemäß einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem simultan zur Bewegungserfassung eine korrelationsspektroskopische Messung erfolgt.

10. Vorrichtung zur Bewegungserfassung an sich periodisch bewegenden Objekten, die Abbildungsmittel zur Abbildung eines Objektes, Detektormittel zur Erfassung der Objektabbildung und Signalarbeitungs- und Rechenmittel zur Bearbeitung der Signale des Detektormittels mit einer Fourieranalyse und/oder einer Korrelationsanalyse umfaßt.

11. Vorrichtung gemäß Anspruch 10, bei der die Abbildungsmittel ein Lichtmikroskop, ein Videosystem und einen Monitor umfassen, auf dessen Bildschirmfläche das Detektormittel angebracht ist, das aus mindestens einem Photoelement besteht.

12. Vorrichtung gemäß Anspruch 10, bei dem die Abbildungsmittel ein Lichtmikroskop umfassen, in dessen Strahlengang das Detektormittel angebracht ist.

13. Vorrichtung gemäß Anspruch 11 oder 12, bei dem das Detektormittel dazu eingerichtet ist, einen Teilbereich des Objektes zu erfassen und ein Detektorsignal bereitzustellen, dessen Zeitabhängigkeit charakteristisch für die Zeitabhängigkeit der Objektbewegung ist.

14. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 10 bis 13, die eine Mikroelektrodenanordnung enthält, die zur Manipulierung mikroskopischer kleiner Objekte unter Wirkung von Hochfrequenzfeldern und zur optisch-mikroskopischen Beobachtung eingerichtet ist.

15. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 10 bis 14, die eine Meßanordnung zur Fluoreszenz-Korrelationspektroskopie enthält.

Hierzu 7 Seite(n) Zeichnungen

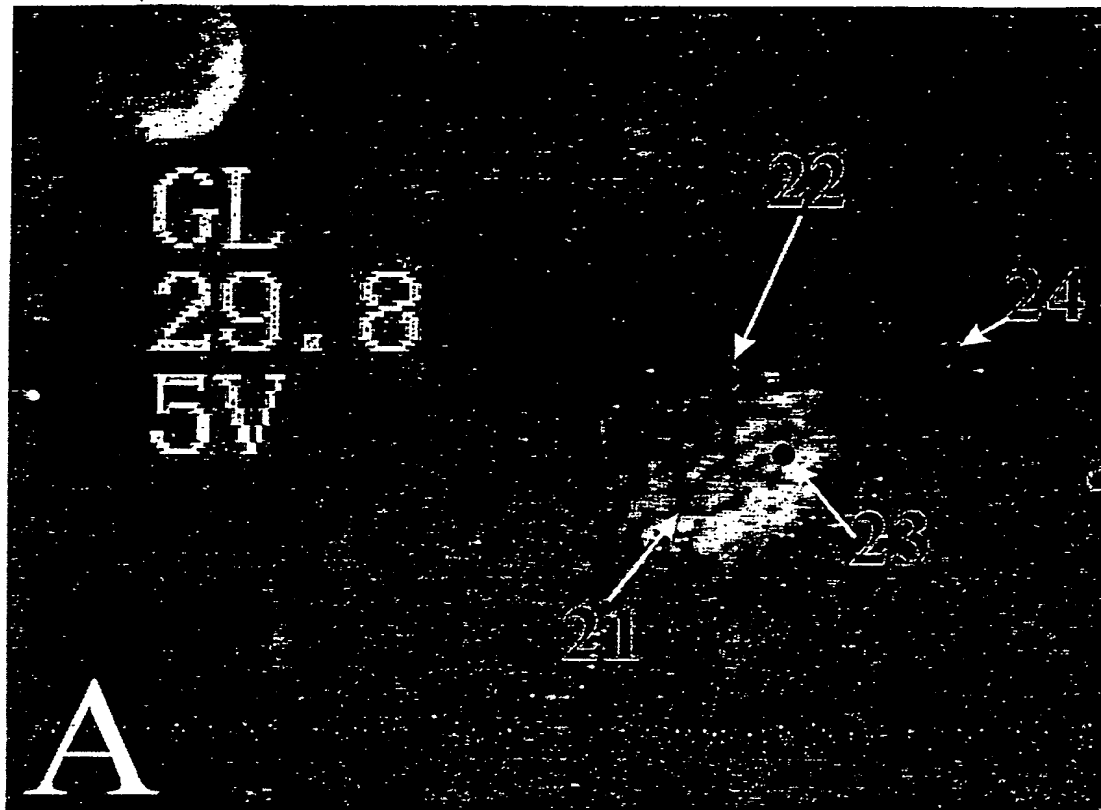
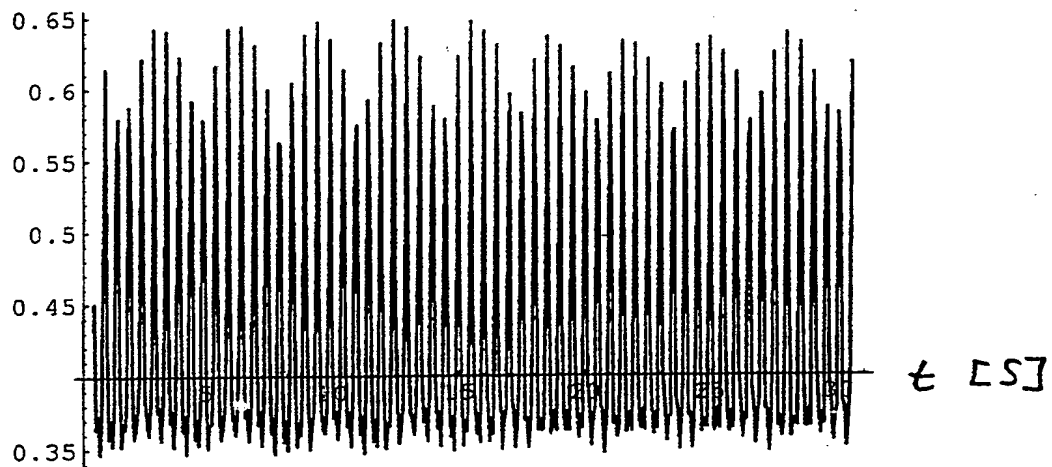
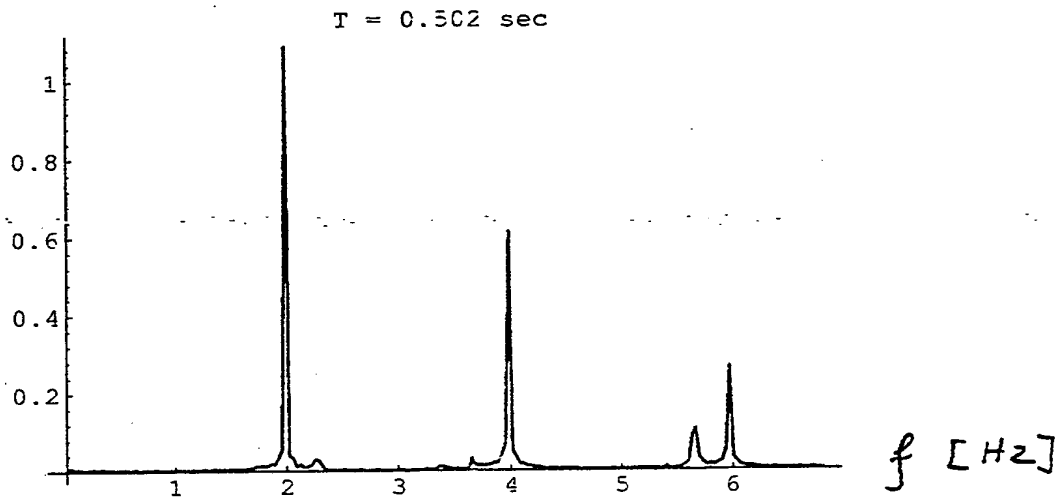


Fig. 2

**a**



**b**



**c**

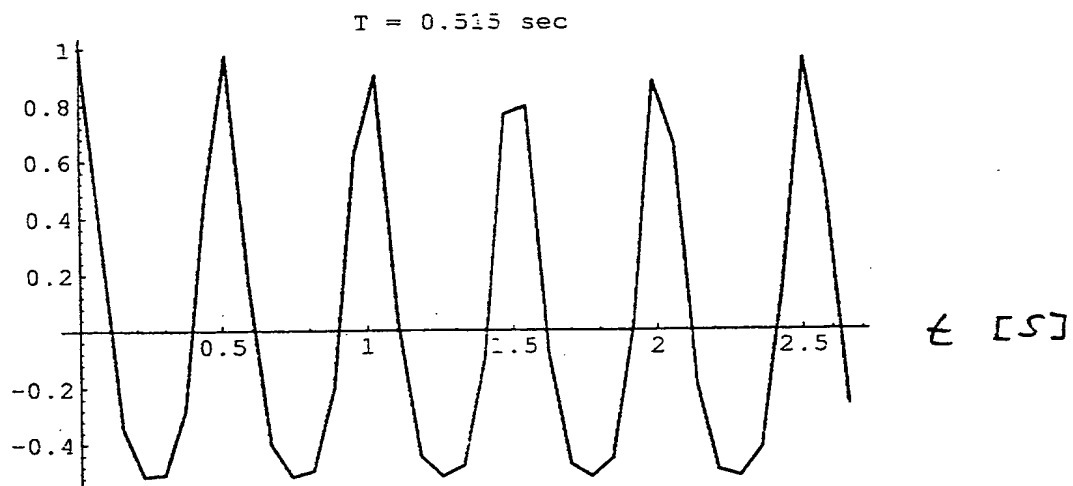
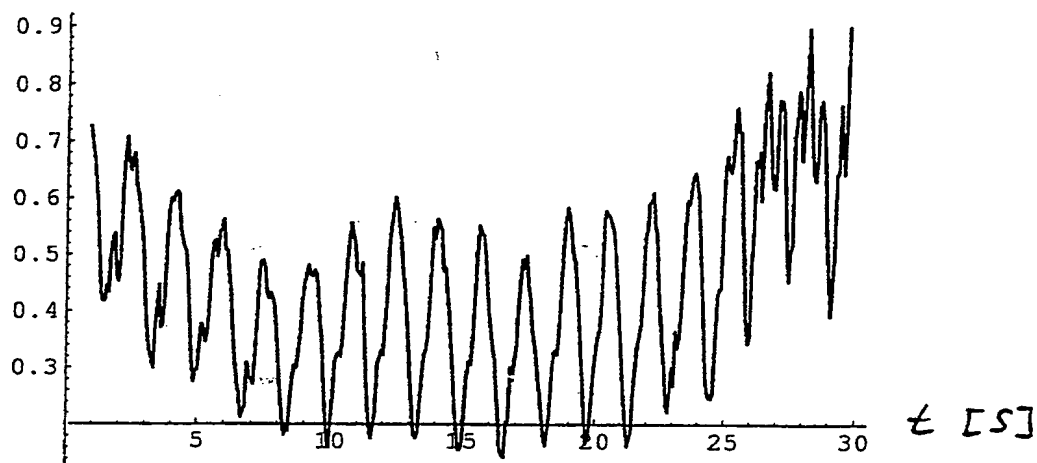
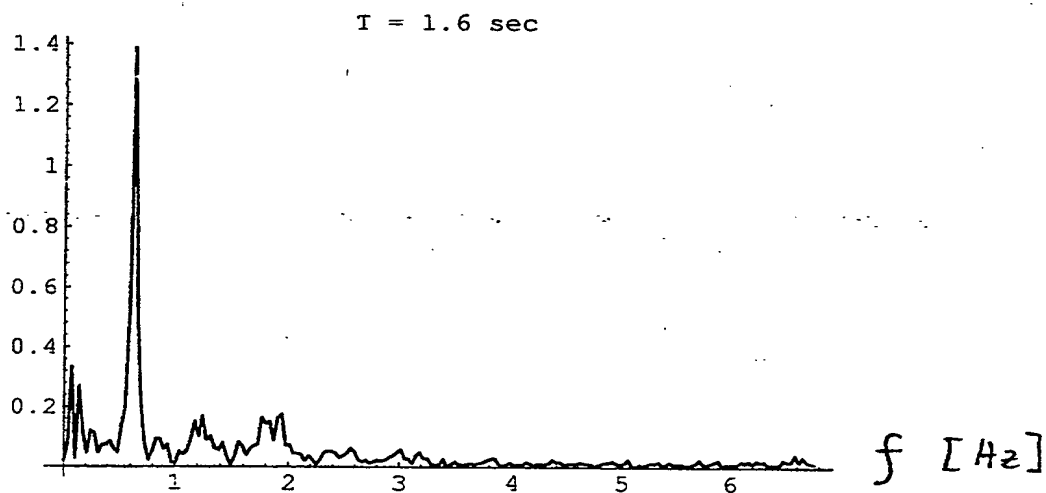


Fig. 3

**a**



**b**



**c**

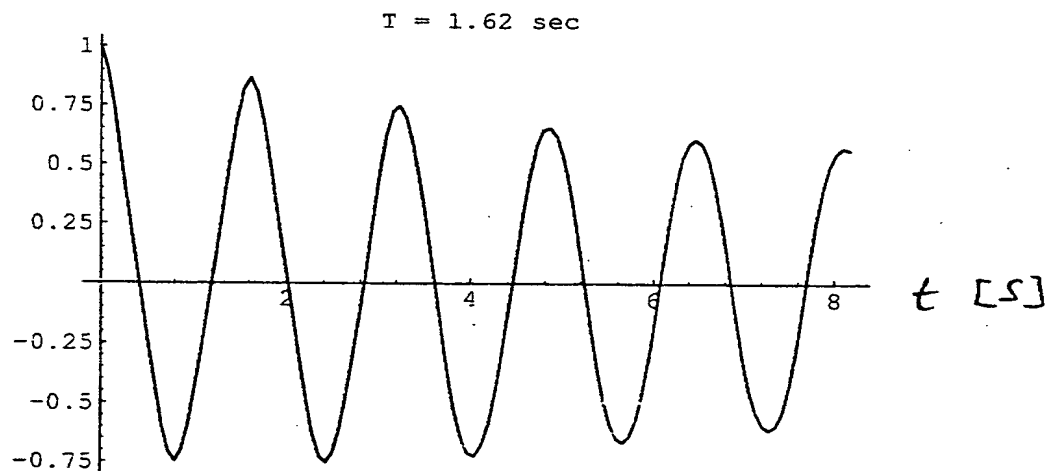


Fig. 4



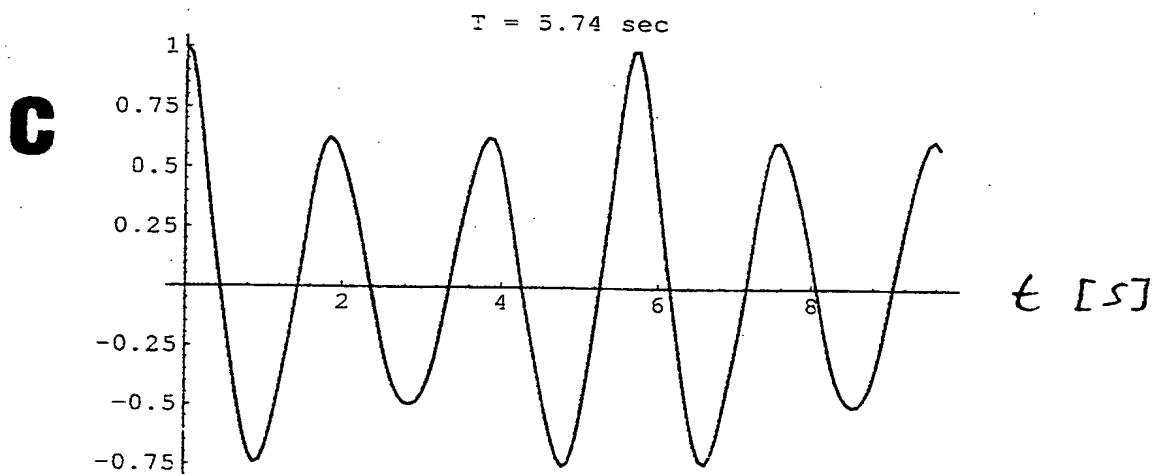
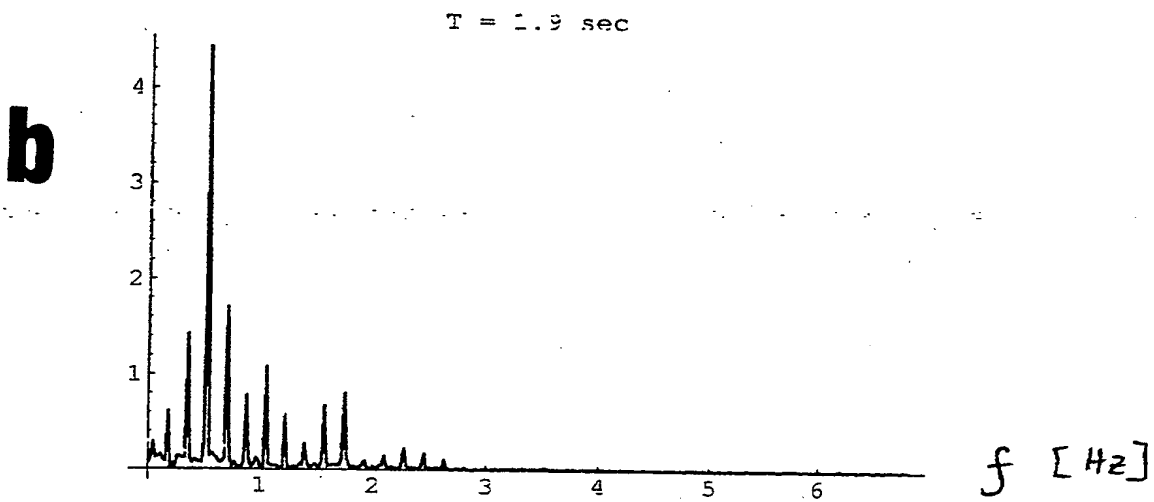
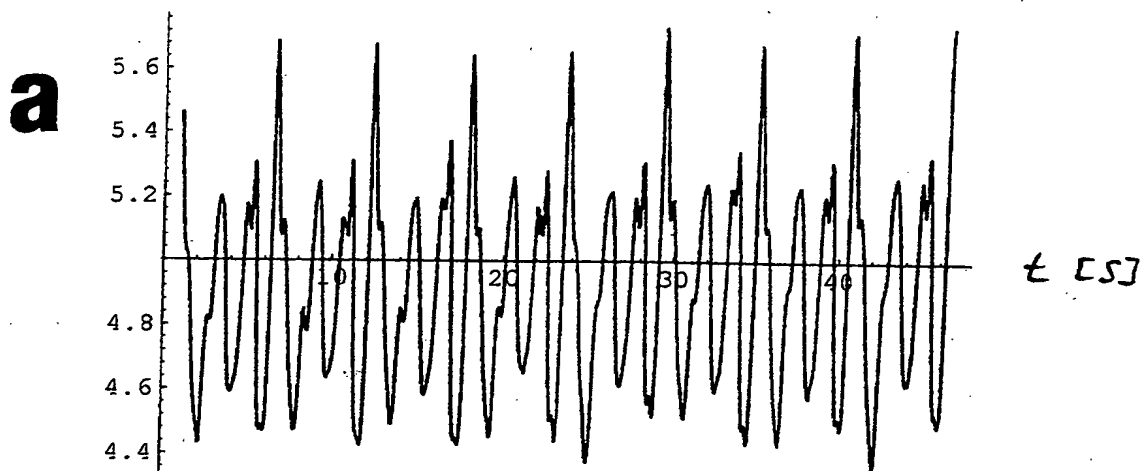


Fig. 5

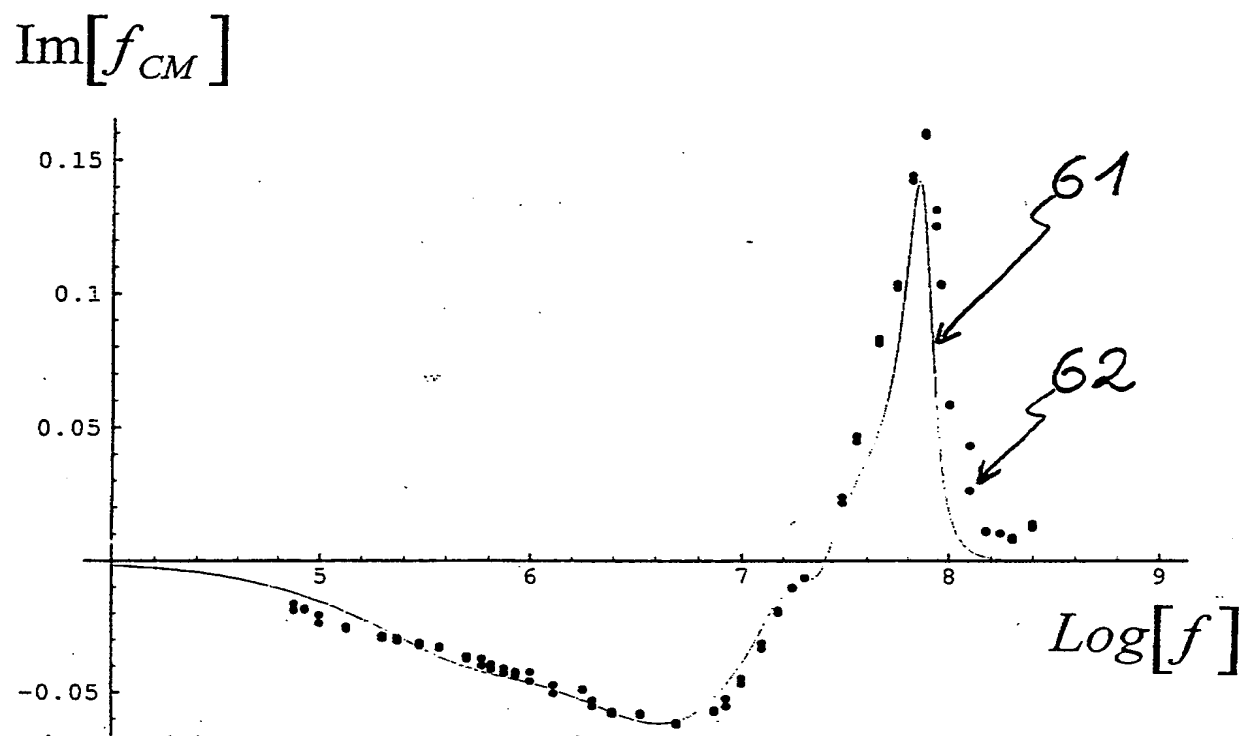
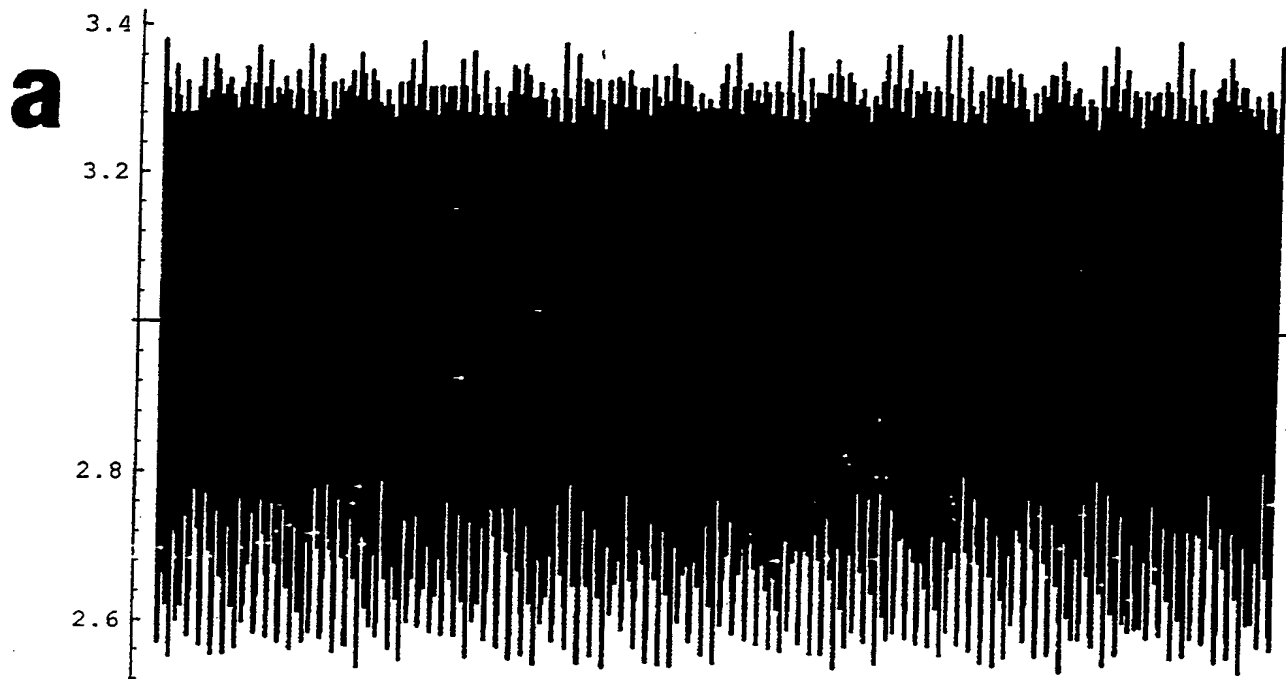
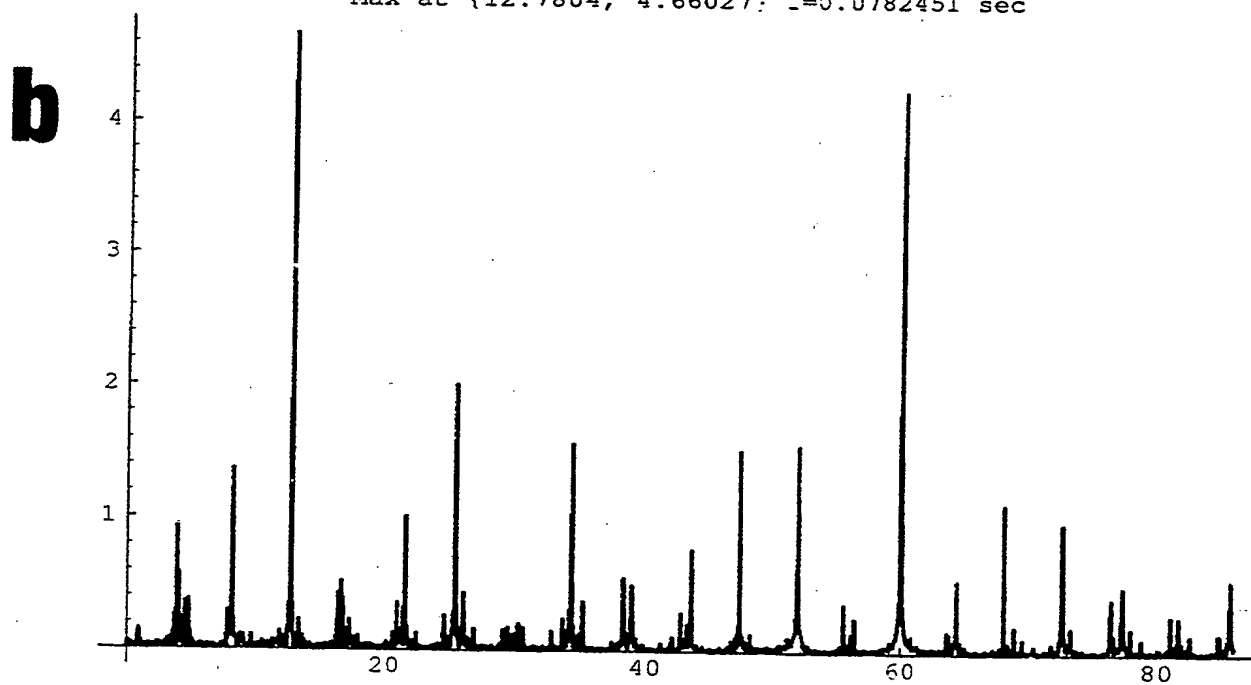


Fig. 6



$t$  [s]

Max at {12.7804, 4.66027};  $\tau=0.0782451$  sec



$f$  [Hz]

Fig. 7

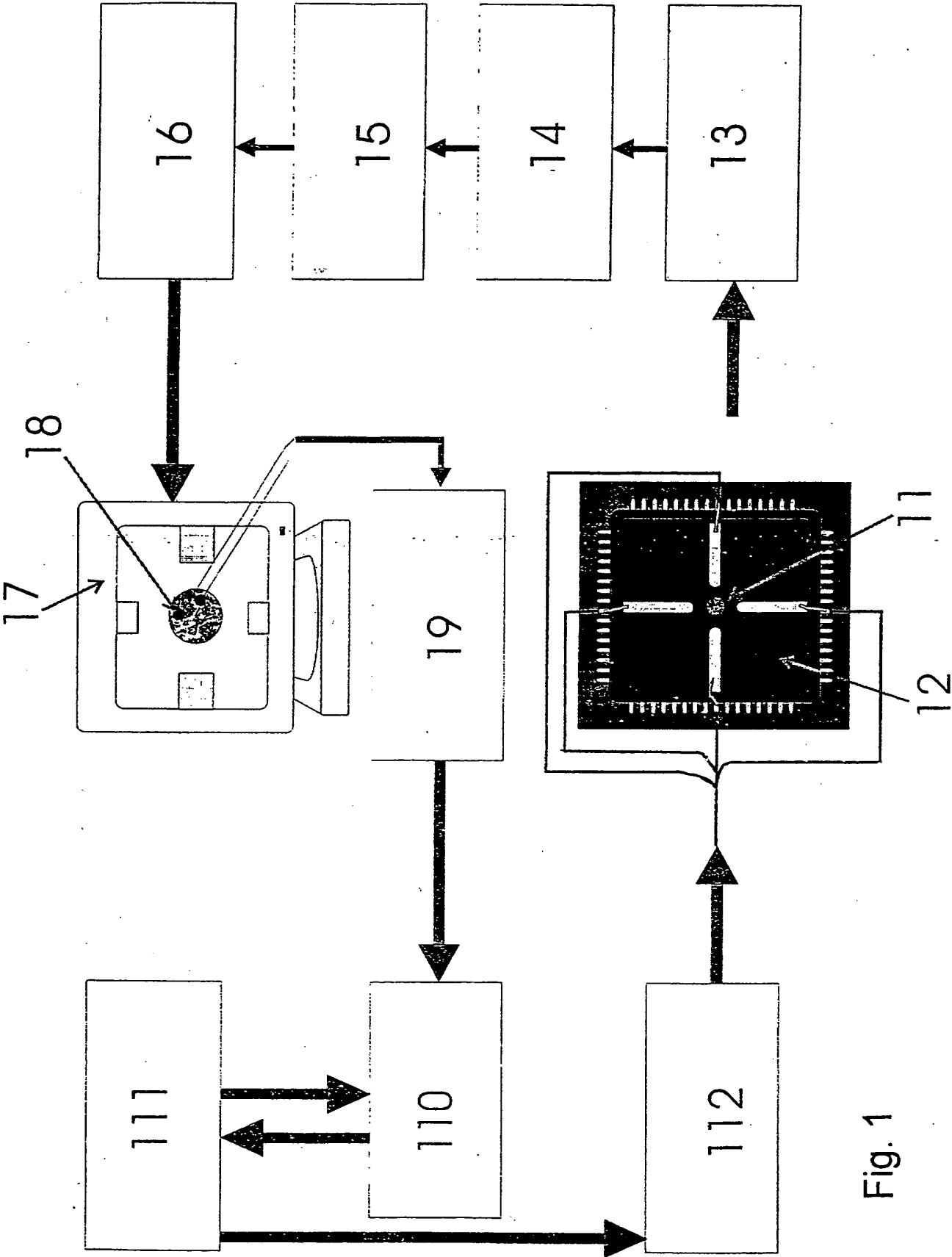


Fig. 1